Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 93-106

Effect of Autolyzed Yeast on Performance, Egg Quality, Microbial Population and Intestinal Morphology of Laying Hens

Somayyeh Salari[1*], Karim Javidaneh[2]

Received: 02-09-2021
Revised: 22-01-2022
Accepted: 24-01-2022
Available Online: 24-01-2022

How to cite this article:
Salari, S., & Javidaneh, K. (2023). Effect of autolyzed yeast on performance, egg quality, microbial population and intestinal morphology of laying hens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 93-106.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.73976.1056

Introduction: Antibiotics have been routinely supplemented in diets of poultry to maintain their health, reduce stress, and enhance productivity. However, due to the development of resistance of bacteria to antibiotics and the possibility of these pathogens to be zoonotic, the use of various antibiotic products in livestock and poultry production is gradually being banned around the world. With the possibility of further ban in more regions of the world, research interest into alternatives to in-feed antibiotics has increased. One alternative to in-feed antibiotics that has gained research interest for use in poultry is yeast (Saccharomyces cerevisiae). Yeast in both probiotic (live) and prebiotic (dead) forms has been reported to provide several benefits to both healthy of animals, including poultry. The ability of yeast and its components to act as growth promoter could be associated with different mechanisms that it exhibits individually or synergistically. For instance, yeasts have been reported to favor the proliferation of beneficial microbes by serving as substrates for these microbes in the gut. These beneficial microbes, such as *Lactobacillus*, have been reported to improve gut health as well as exhibit growth-promoting effects in broiler chickens. Specifically, yeast cell wall that is extracted from whole yeast consists mainly of α-mannans and β-1–3-glucans, which are reported to prevent or eliminate bacterial infections.

Materials and Methods: In order to study various levels of autolyzed yeast (Privita) on performance, quality characteristics of egg, cecal microbiology and intestinal histomorphology of laying hens (Hy-line W-36) (64 weeks), an experiment was done with 192 birds for 10 weeks. Treatments were various levels of autolyzed yeast (control, 250 ml/1000l, 500 ml/1000l, and 750 ml/1000l) that conducted in completely randomized design with 8 replications. Egg production (EP) and egg weight (EW) were recorded daily and feed intake (FI) and feed conversion ratio (FCR) were evaluated weekly. Quality characteristics of eggs were evaluated 2 times per period. Iintestinal histomorphology was determined at the end of experiment. At the end of the study, one birds per replicate were killed by cervical dislocation and blood was drawn from the jugular vein. Serum was separated after centrifugation at 4500 g and 4°C for 10 min, and frozen at −20°C until further analysis was conducted for blood biochemical parameters. Serum samples were analysed for concentrations of low-density lipoprotein (LDL), cholesterol, and triglycerides using standard kits (Zist Shimi, Tehran, Iran) with an autoanalyser (Autolab PM 4000; Medical System, Rome, Italy). Then, caecal digesta (1 g) from each bird were aseptically transferred into 9 ml of sterile saline solution and serially diluted. Lactobacilli, Coliforms, and E.Coli were grown on Rogosa–Sharpe agar, MacConkey Agar, and Eosin Methylene Blue Agar, respectively. Plates for *Lactobacillus* were incubated anaerobically for 48 h at 37 °C. Microbial populations for *E. coli* and *Coliforms* were counted after aerobic incubation at 37°C for 24 hours. All samples were plated in duplicate.

Results and Discussion: This study results showed that addition of autolyzed yeast could not change performance parameters. Yolk color was highest at 250 ml/1000l which had a significant difference with 750 ml/1000l (P <0.05). Addition of autolyzes yeast at levels of 500 and 750 ml/1000l significantly increased cecal *Lactobacillus* and decreased *Coliforms* of cecum (P < 0.05). Addition of autolyzed yeast at level of 750 ml/1000l

1- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2- Chairman of Executive Committee, Kavoshgar Sepehr Javan Company, Dezful, Iran
*Corresponding Author's Email: s.salari@asnrukh.ac.ir

significantly decreased cecal *Ecoli* compared to the other treatments (P < 0.05). The possible reason for the observed response could be the ability of the yeast to maintenance of normal gut microflora as well as preventing the proliferation of pathogenic microbes. This action may partly contribute to increased nutrient digestibility, reduced competition for nutrients, increased nutrient utilization as well as absorption. Villus height of the e duodenum increased in layers fed on 750 ml/1000l compared to the birds fed 250 ml/1000l (P < 0.05). While crypt depth and villus height-to-crypt depth ratios of the duodenum in birds fed 750 ml/1000l compared to the birds 250 ml/1000l decreased and increased, respectively. Crypt depth of jejunum significantly decreased in birds fed highest level of autolyzed yeast compared to the other treatments.

Conclusion: Results of this experiment showed that supplementation of autholyzed yeast could not significant change in qualitative and quantitative parameters. But, levels of 500 and 750 ml/1000l autholyzed yeast increased cecal microbial of *Lactobacillus* and decreased *Coliform* and the level of 750 ml/1000l decreased *Ecoli* of cecum and increased villus height and villus height-to-crypt depth ratios of the duodenum.

Keywords: Microbial population, Histomorphometry, Laying hen, Yeast

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱۴۰۲، ص ۱۰۶-۹۳

اثر مخمر اتولیز شده بر عملکرد تولید و کیفیت تخم‌مرغ، جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی روده مرغان تخم‌گذار

سمیه سالاری[۱*]، کریم جاویدانه[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۱/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۴

چکیده

به‌منظور مطالعه تأثیر مخمر اتولیز شـده بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ، جمعیت میکروبی سـکوم و فراسـنجه‌های هیسـتومورفومتری روده مرغان تخم‌گذار، آزمایشی با استفاده از ۱۹۲ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه‌های‌لاین در سن ۶۴ هفتگی به‌مدت ۱۰ هفته انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف مخمر پری‌ویتا: شاهد (بدون مکمل)، ۲۵۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب، ۵۰۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب (پیشنهاد شرکت)، ۷۵۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب بود که در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تکرار اجرا شد. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از مخمر اتولیز شده نتوانست فراسنجه‌های عملکردی پرندگان را تحت تأثیر قرار دهد. اگرچه در سـطوح ۵۰۰ و ۷۵۰ سـی‌سـی در ۱۰۰۰ لیتر آب به‌طور معنی‌داری جمعیت لاکتوباسـیل افزایش و جمعیت کلی فرم‌های سکوم کاهش نشان داد. پرندگان مصرف‌کننده سطح ۷۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب، ارتفاع پرز بالاتر و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت بیشتر در دوازدهه در مقایسه با شاهد و سطح ۲۵۰ سی سی مخمر در هزار لیتر آب داشتند. نتایج نشان داد که افزودن مخمر اتولیز شده پری‌ویتا در سطوح ۵۰۰ و ۷۵۰ باعث افزایش جمعیت لاکتوبا سیل و کاهش کلی فرم و سطح ۷۵۰ مخمر باعث کاهش جمعیت *اشرشیاکولی* سکوم و افزایش طول پرزها و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ناحیه دوازدهه بدون تأثیر بر فراسنجه‌های کمّی و کیفی تخم‌مرغ در مرغان تخم‌گذار شد.

واژه‌های کلیدی: جمعیت میکروبی، مخمر، مرغ تخم‌گذار، هیستومورفومتری

مقدمه

امروزه به‌منظور تحریک رشد، رفع کمبود مواد مغذی، تقویت سیستم ایمنی و پیشگیری از بیماری‌ها، مواد افزودنی متعددی به خوراک طیور اضافه می‌شوند و استفاده از دسته افزودنی‌ها که ضمن ویژگی‌های مطلوب، فاقد تبعات سوء بهداشتی و زیست‌محیطی باشند مورد توجه قرارگرفته است (Botsoglu and Fletouris, 2001). *ساکارومایسس سرویزیه* یکی از رایج‌ترین نوع تجاری از مخمرها می‌باشد که منبع غنی از پروتئین، ویتامین B کمپلکس، مواد معدنی و بسیاری از عوامل مفید دیگر می‌باشد که به‌عنوان محرک رشد طبیعی به جیره دام و طیور افزوده می‌شود (Rezaeipour *et al*., 2012). استفاده از مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* و کربوهیدرات‌های جداشده از دیواره سلولی آن (مانان الیگوساکاریدها، فروکتوالیگوساکاریدها و بتاگلوکان‌ها) مورد توجه چندین مطالعه در طیور بوده است (Shao *et al*., 2013; Shang *et al*., 2015; Adhikari *et al*., 2018). مخمرها ممکن است با تغییر فلور میکروبی روده، احتمالاً از طریق کنترل pH باعث بهبود عملکرد

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
۲- مدیرعامل شرکت کاوشگر سپهر جوان، دزفول، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: s.salari@asnrukh.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.73976.1056

شوند (Leeson and Summers, 2008). برخی از مطالعات اثرات مخمر را در افزایش غلظت باکتری‌های مفید یا سرکوب باکتری‌های بیماری‌زا تأیید کرده‌اند (Parks *et al*., 2001). مخمر اتولیز شده محصول تخریب سلولی است که توسط فعال شدن آنزیم‌های خاص خود، اجزای سلولی و ساختاری خود را تجزیه می‌کند. ترکیب مخمر اتولیز شده، بسته به فرآیند تولیدشده متفاوت است و معمولاً مخمر اتولیز شده *ساکارومایسس سرویزیه* حاوی ۶۴- ۲۹ درصد بتاگلوکان، ۳۱ درصد مانان الیگوساکارید، ۱۳ درصد پپتید و اسیدهای آمینه ضروری و نه درصد لیپید می‌باشد (Jaehrig *et al*., 2008). نوکلئوتیدهای موجود در مخمر اتولیز شده به‌عنوان فاکتورهای رشد برای سلول‌های روده‌ای خوک عمل نموده و باعث تمایز و بلوغ آن‌ها می‌شود. افزایش ضخامت پرزهای روده و افزایش فعالیت آنزیم‌های هضمی، ازجمله اثرات مفید نوکلئوتیدها بر سلول‌های روده‌ای خوک هستند (Mateo *et al*., 2004). محققان دریافتند که مانان الیگوساکاریدهای موجود در مخمر، قادرند جایگاه اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به اپتلیوم روده را توسط چسبیدن به پروتئین‌های ویژه در سطح سلول باکتری را اشغال کرده و کلونی‌سازی باکتری‌های بیماری‌زا را کاهش دهند. این عمل منجر به کاهش در جمعیت *سالمونلا* و *ای‌کلای* (Adhikari and Kim, 2017; Adhikari *et al*., 2018)، افزایش لاکتوباسیل‌ها در مخاط روده و همچنین محافظت از پرزهای روده می‌شود (Shang *et al*., 2018). همچنین مانان الیگوساکاریدها می‌توانند با تحریک ایمنی مخاط، سیستم ایمنی روده را تعدیل کند، زیرا ممکن است به‌عنوان آنتی‌ژن‌های میکروبی غیر بیماری‌زا عمل کنند (Davis *et al*., 2004).

با توجه به مطالب بیان شده و اهمیت پری‌بیوتیک و نیز تأثیر این افزودنی‌ها بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش طیور، به نظر می‌رسد که استفاده از مخمر اتولیز شده که نقش پری بیوتیکی دارد، تأثیر سودمندی بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار داشته باشد. لذا تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده در تغذیه مرغان تخم‌گذار به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، از ۱۹۲ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه‌های‌لاین W۳۶ در سن ۶۴ هفتگی با میانگین وزن ۲۰±۱۷۰۰ گرم، مصرف خوراک روزانه حدود ۱۰۰ گرم و ۷۵ درصد تولید به‌مدت هشت هفته استفاده شد. نوع سیستم پرورش سیستم قفس بوده است و روشنایی سالن با کمک لامپ‌های ۶۰ واتی تنگستن تأمین شده است. آبخوری‌ها به‌صورت نیپل و دانخوری‌ها به‌صورت ناودانی بودند. قبل از شروع رکوردگیری، به‌مدت ۱۰ روز عادت‌پذیری به پرندگان داده شد و پرندگان با مکمل مورد نظر تغذیه شدند. سپس به‌مدت هشت هفته رکوردبرداری انجام شد. خوراک روزانه دو بار به‌صورت دستی بین مرغ‌ها توزیع می‌شد. تخم‌مرغ‌ها هرروز به هنگام بعدازظهر (ساعت ۱۶) جمع‌آوری می‌شدند. شرایط محیطی داخل سالن کاملاً تحت کنترل بوده و دمای سالن در حدود ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شد و به‌طور مرتب عمل تهویه انجام و مدت روشنایی ۱۶ ساعت نور ثابت تأمین گردید. مرغ‌ها ازنظر وزنی نزدیک به هم انتخاب شدند و به ۳۲ واحد آزمایشی، شامل چهار تیمار و هشت تکرار (تعداد شش قطعه مرغ در هر تکرار، هر دو قفس کنار هم به‌عنوان یک تکرار) اختصاص یافته و در داخل جایگاه مربوط به خود جای گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف مخمر اتولیز شده ویژه طیور (پری ویتا): شاهد (بدون مکمل)، ۲۵۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب، ۵۰۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب (پیشنهاد شرکت)، ۷۵۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب بود. تمامی پرندگان جیره یکسانی با توجه به مقدار انرژی و پروتئین مورد نیاز بر اساس احتیاجات توصیه شده در راهنمای تغذیه مرغ تخم‌گذار (های‌لاین W-۳۶) دریافت نمودند. اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه در جدول ۱ نشان داده شده است. آب‌ودان در کل دوره آزمایش به‌طور آزاد در اختیار مرغ‌ها قرار گرفت. مقدار مخمر اتولیز شده هر روز به‌صورت تازه در آب مخلوط می‌شد و در مخزن آبخوری هر تیمار که در ابتدای سالن مرغ تخم‌گذار قرار داشت، وارد می‌شد. مخمر اتولیز شده به‌صورت مایع و ساخت شرکت کاوشگر سپهر جوان بود.

تخم‌مرغ‌های هر تکرار آزمایشی روزانه در نوبت عصر جمع‌آوری، شمارش و وزن آن‌ها به‌وسیله ترازو با دقت یک گرم ثبت می‌شد. سپس درصد تولید از فرمول زیر محاسبه شد (Çabuk *et al*., 2003):

رابطه (۱) $$Pd = Te/N \times 100$$

که در آن، Pd: درصد تولید روزانه، Te: تعداد تخم‌مرغ‌های تولید شده هر واحد آزمایشی و N: تعداد مرغ‌های زنده موجود در هر واحد آزمایشی می‌باشند.

وزن تخم‌مرغ‌های هر واحد آزمایشی به‌طور روزانه و در پایان هر روز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد و در پایان هفته به‌صورت میانگین وزن تخم‌مرغ هفتگی برای هر واحد آزمایشی ثبت می‌شد (Çabuk *et al*., 2003):

رابطه (۲) $$EW = EWT/N$$

که در آن، EW: میانگین وزن تخم‌مرغ روزانه، EWT: وزن کل تخم‌مرغ تولیدی هر واحد آزمایشی و N: تعداد تخم‌مرغ تولیدی هر واحد آزمایشی می‌باشند.

برای اندازه‌گیری مقدار خوراک مصرفی، روزانه به‌صورت آزاد خوراک در اختیار مرغ‌ها قرار می‌گرفت و سپس در پایان هر هفته خوراک باقی‌مانده توزین و خوراک مصرفی طبق فرمول زیر محاسبه می‌شد (Çabuk et al., 2003):

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه مورد استفاده در طول دوره آزمایش
Table 1- Ingredients and chemical composition of experimental diet during the experiment

اجزای جیره (٪) Ingredients (%)	جیره ۶۴ تا ۷۴ هفتگی Diet 64 to 74 weeks
ذرت Corn	61.68
کنجاله سویا (۴۳٪ پروتئین خام) Soybean meal (43% CP)	23.35
روغن آفتابگردان Sunflower oil	2.5
سنگ آهک Limestone	5.00
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.95
پوسته صدف Oyster shell	4.5
سدیم کلراید Sodium chloride	0.37
مکمل ویتامینه و مواد معدنی ۱ و ۲ Mineral and vitamin premix[1,2]	0.50
دی ال- متیونین DL-Methionine	0.15
آنالیز محاسبه شده (٪) Calculated analysis (%)	
انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری (کیلوکالری بر کیلوگرم) AME (kcal/ kg)	2894
پروتئین خام Crude protein	15.55
کلسیم Calcium	4.1
فسفر قابل دسترس Available phosphorus	0.47
سدیم Sodium	0.17
لیزین Lysine	0.89
متیونین Methionine	0.40
متیونین + سیستین Methionine + cysteine	0.70

[۱ و ۲] مکمل ویتامینه به‌ازای هر کیلوگرم جیره حاوی ۸۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۱ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین K، ۱/۴۷۷ میلی‌گرم ویتامین B1، چهار میلی‌گرم ویتامین B2، ۷/۸۴ میلی‌گرم ویتامین B3، ۳۴/۶۵ میلی‌گرم ویتامین B5، ۲/۴۶۴ میلی‌گرم ویتامین B6، ۰/۱۱ میلی‌گرم ویتامین B9، ۰/۰۱ میلی‌گرم ویتامین B12 بود. مکمل معدنی به‌ازای هر کیلوگرم جیره حاوی: ۷۴/۴ میلی‌گرم منگنز، ۶۷/۵۶۴ میلی‌گرم روی، ۷۵ میلی‌گرم آهن، شش میلی‌گرم مس، ۸۶۷ میلی‌گرم ید، ۲ میلی‌گرم سلنیوم می‌باشد.

[1, 2] Vitamin premix provides per kg diet: vitamin A, 8500 IU; vitamin D3, 2500 IU; vitamin E, 11IU; vitamin K3, 2.5 mg; vitamin B1, 1.477 mg; vitamin B2, 4.0 mg; vitamin B3, 7.84 mg; vitamin B5, 34.65 mg; vitamin B6, 2.464 mg; vitamin B9, 0.11 mg; vitamin B12, 0.01µg. Mineral premix provides per kg diet: Mn, 74.4; Fe, 75.0; Zn, 67.564; Cu, 6.0 and Se, 2 mg.

رابطه (۳)

مقدار خوراک مصـــرفی (گرم به‌ازای هر مرغ در هر روز) = مقدار خوراک وزن شـــده در ابتدای هفته - مقدار خوراک باقی‌مانده در پایان هفته/تعداد مرغ

محاسبه ضریب تبدیل خوراک با توجه به توده تخم‌مرغ تولیدی و خوراک مصـــرفی هر واحد آزمایشـــی در هر روز به‌صـــورت فرمول زیر

محاسبه شد و در پایان هفته به صورت میانگین هفتگی ثبت گردید و در پایان دوره ضریب تبدیل غذایی کل دوره هر واحد آزمایشی محاسبه شد (Çabuk *et al.*, 2003):

FCR= FI/ Em   رابطه (۴)

که در آن، FCR: ضریب تبدیل خوراک هر واحد آزمایشی، FI: مصرف خوراک هر واحد آزمایشی و Em: توده تخم مرغ هر واحد آزمایشی (درصد تولید ضربدر میانگین وزن تخم‌مرغ تقسیم بر صد) می‌باشند.

جهت بررسی خصوصیات کیفی تخم‌مرغ، دو بار در کل دوره (هر چهار هفته یک‌بار) نمونه‌گیری انجام گرفت و در هر نمونه‌گیری تعداد دو عدد تخم‌مرغ از هر تکرار انتخاب شد. پس از شماره‌گذاری نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و با ترازوی دیجیتالی ۰/۰۱ گرم توزین و سپس بر روی سطح پتری دیش شکسته و پارامترهای مورد نظر اندازه‌گیری شد. برای تعیین کیفیت سفیده از دستگاهی به‌نام ارتفاع سنج استفاده شد. واحد اندازه‌گیری ارتفاع سفیده غلیظ میلی‌متر است. واحد هاو در واقع شاخصی است که در آن ارتفاع سفیده برای وزن تخم‌مرغ تصحیح شده است و تصحیح از طریق رابطه لگاریتمی زیر انجام گرفت.

رابطه (۵)

$$\text{Haugh Unit}=100\log_{10}^{(H-1.7W^{0.37}+7.6)}$$

در این رابطه، H ارتفاع سفیده غلیظ (برحسب میلی‌متر) و W وزن تخم‌مرغ (برحسب گرم) است. ارتفاع سفیده غلیظ از یک نقطه مشخص برای تمامی تخم‌مرغ‌ها با استفاده از دستگاه ارتفاع‌سنج اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول بالا محاسبه شد. هر چه واحد هاو بالاتر باشد، کیفیت سفیده بهتر است. جهت ارزیابی کیفیت پوسته، شاخص استحکام و ضخامت آن در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری شدند. به این منظور دو تخم‌مرغ سالم از هر تکرار مورداستفاده قرار گرفتند. قسمتی از پوسته نزدیک به‌پهنای تخم‌مرغ به همراه لایه‌های آن با استفاده از دستگاه میکرومتر با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر تعیین ضخامت شد و نیز برای تعیین مقاومت پوسته از دستگاه مقاومت‌سنج استفاده شد که واحد آن کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع می‌باشد (Çabuk *et al.*, 2003). رنگ زرده با استفاده از بادبزن رنگی مخصوص (شابلون) تعیین که مقیاس آن واحد رش می‌باشد (Çabuk *et al.*, 2003). در پایان دوره آزمایش، از هر تکرار دو قطعه مرغ تخم گذار پس از ۶- ۵ ساعت گرسنگی انتخاب و نمونه‌های خون از ورید بال آن‌ها تهیه و در لوله‌های هپارینه جمع‌آوری گردید تا با استفاده از این نمونه‌ها فراسنجه‌های لیپیدی خون نظیر تری‌گلیسرید، کلسترول و لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) اندازه‌گیری شود. بعد از خون‌گیری، نمونه بلافاصله به آزمایشگاه انتقال و با استفاده از سانتریفیوژ (به‌مدت ۱۰ دقیقه در g ۱۵۰۰) سرم آن‌ها جدا و تا زمان سنجش فاکتورهای ذکر شده در دمای ۲۰- نگهداری شدند. غلظت فراسنجه‌های لیپیدی خون با استفاده از روش آنزیمی و با کیت تجاری شرکت پارس آزمون و به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Convergys(R)100, Germany) تعیین شد. در روز پایانی آزمایش، یک قطعه پرنده از هر تکرار (هشت قطعه برای هر تیمار) به صورت تصادفی انتخاب و ابتدا سطح شکمی پرنده با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی و پس از کشتار، حفره شکمی در شرایط استریل باز شد تا جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل، اشرشیاکولای، کلی‌فرم و کل هوازی در سکوم مورد بررسی قرار گیرند. جهت کشت و شمارش باکتری‌ها از محیط‌های کشت اختصاصی استفاده شد. از محیط کشت اختصاصی روگاسا آگار برای کشت لاکتوباسیل‌ها، برای کشت باکتری‌های کلی‌فرم از محیط کشت مکانکی آگار، و *اشریشیا کلی* از محیط کشت ائوزین متیلن بلو آگار استفاده شد. جهت تهیه رقت مناسب کشت، بعد از کشتار پرندگان سکوم در محل اتصال به ایلئوم و کولون توسط نخ بسته شد و به کمک قیچی استریل و پنس از روده جدا و در داخل پتری دیش‌های استریل قرار گرفت. سپس توسط اسکالپر (تیغ) شکافی به‌صورت طولی درروی سکوم ایجاد کرده و یک گرم از محتویات سکوم استخراج و در داخل لوله‌های آزمایش حاوی نه میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده (نرمال سالین) ریخته شد و دهانه لوله‌آزمایش تو سط پنبه استریل بسته تا رقت 10^{-1} به‌دست آید. محتویات لوله‌های آزمایش توسط شیکر هموژنیزه گردیدند. سپس یک میلی‌لیتر از محلول لوله اول را برداشته و در لوله دوم حاوی نه میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده وارد گردید تا رقت 10^{-2} به‌دست آید. این عمل تا به‌دست آوردن رقت‌های 10^{-8} ادامه یافت. در این بخش کشت باکتری لاکتوباسیل به‌صورت آمیخته یا پورپلیت و کشت کلی‌فرم، *اشریشیا کلی* و کل هوازی به‌صورت سطحی انجام پذیرفت. برای این منظور ابتدا شرایط استریل مهیا شده و سپس جهت کشت هرکدام از باکتری‌ها دو پتری‌دیش آماده شد و یک میلی‌لیتر از رقت مورد نظر را در داخل پتری‌دیش‌ها وارد کرده و بر روی آن‌ها از محیط‌های کشت (با دمای ۴۸ درجه سانتی‌گراد) ریخته و حدود ۳۰ ثانیه پلیت‌ها را به‌صورت هشت انگلیسی (مارپیچی) روی میز تکان داده تا قبل از سفت شدن محیط، رقت‌ها در محیط کشت پخش شوند. بعد از کشت باکتری‌ها، پلیت‌های (محیط کشت) لاکتوباسیل در شرایط بی‌هوازی (استفاده از جار بی‌هوازی) و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و پلیت‌های حاوی EMB برای کشت *اشریشیا کلی* و محیط MCA برای *کلی‌فرم*، در شرایط هوازی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. واحدهای تشکیل کلنی در پلیت‌ها پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تلقیح مورد ارزیابی و شمارش قرار گرفتند. در این قسمت رقتی انتخاب می‌شود که تعداد کلنی‌ها آن بین ۳۰۰- ۳۰ و تعداد کلنی‌ها به‌صورت زیر محاسبه شدند.

رابطه (۶)

تعداد کلنی × عکس رقت = جمعیت ریزجانداران در هر گرم ماده

(CFU/g)

اگر پلیت با تعداد کلنی بین ۳۰ تا ۳۰۰ وجود نداشته باشد، دو حالت اتفاق می‌افتد. تعداد کلنی کم‌تر از ۳۰ عدد باشد که در این حالت کلنی را در غلیظ‌ترین رقت (کم‌ترین رقت) مبنا قرار داده و تعداد باکتری‌ها را شمارش کرده و با استفاده از فرمول بالا تعداد کلنی را در هر گرم ماده را محاسبه می‌نماییم و اگر تعداد کلنی‌ها بالاتر از ۳۰۰ عدد با شد در این حالت در هر ۱۳ سانتی‌متر بر روی پلیت تعداد کلنی را شمارش نموده و عدد بدست‌آمده را بر ۱۳ تقسیم می‌کنیم تا تعداد کلنی تقریبی در هر یک سانتی‌مترمربع به‌دست آید. این عدد را مبنا قرار داده و با توجه به مساحت سطح پلیت تعداد ریزجانداران را محاسبه و به‌صورت زیر گزارش می‌گردند.

رابطه (۷)

$$\text{عکس رقت} \times \text{مساحت پلیت} \times X = \frac{\text{جمعیت ریزجانداران (CFU/g)}}{\text{در هر گرم ماده}}$$

برای مطالعه تغییرات ریخت‌شناسی بخش‌های مختلف روده کوچک، در روز پایانی آزمایش یک پرنده از هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب گردید. سپس حدود پنج سانتی‌متر از قسمت ابتدایی دوازدهه و ژژنوم جداشده و نمونه بافتی حداکثر با ضخامت ۰/۵ سانتی‌متر تهیه و به محلول فرمالین ۱۰ درصد انتقال یافت. جهت انجام مراحل آماده سازی و تهیه مقاطع بافتی به کمک تیغه اسکالپل، نمونه‌های بافتی پایدار (فیکس) شده از داخل محلول فرمالین خارج گردید. به دنبال تهیه مقاطع بافتی و جاگذاری آن‌ها در حامل‌های مخصوص (بسکت‌ها)، مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها توسط دستگاه خودکار آماده‌کننده بافت (هیستوکینت) صورت گرفت. برای آماده‌سازی نمونه‌ها بافتی سه مرحله: آبگیری، شفاف‌سازی و پارافینه شدن انجام شد. مرحله آب‌گیری از نمونه‌های بافتی، با قرار دادن آن‌ها در داخل محلول الکل اتیلیک با درجات صعودی صورت گرفت. برای شفاف‌سازی نمونه‌ها و گرفتن الکل از زایلل استفاده گردید. پارافینه کردن به‌منظور اشباع‌سازی نمونه‌ها با پارافین صورت پذیرفت و در نهایت، پس از خروج نمونه‌ها از دستگاه یاد شده، تهیه بلوک‌های بافتی با استفاده از قالب انجام شد. تهیه برش‌های عرضی (سه مقطع بافتی از هر قسمت از روده کوچک هر جوجه) از نمونه‌های آماده شده، مرحله بعدی بود که به کمک دستگاه میکروتوم چرخان و با ضخامت ۶-۵ میکرومتر صورت گرفت. برش‌های تهیه‌شده داخل آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد شناور گردید تا پس از صاف شدن چروک‌های احتمالی آن‌ها، به‌راحتی روی لام قرار گیرند. رنگ‌آمیزی بافت‌های پایدار شده روی لام، پس از پارافین با زایلل و آب‌دهی با درجات نزولی الکل اتیلیک، به کمک هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) انجام گردید (Iji *et al.*, 2001). قبل از انجام مطالعات میکروسکوپی، جهت مصونیت بیش‌تر، روی بافت‌های تهیه‌شده لامل چسبانده شد. برای بررسی بافت‌های تهیه‌شده از میکروسکوپ نوری (نیکون، مدل YS۱۰۰، ساخت کشور چین) مجهز به عدسی Digital Dino-Lite و نرم‌افزار Dino capture software II استفاده شد. فراسنجه‌های مورد اندازه‌گیری شامل: ارتفاع و عرض پرزها، عمق کریپت، نسبت ارتفاع پرزها به عمق کریپت‌ها بودند.

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، هشت تکرار به انجام رسید. داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (2003) و رویه GLM مورد آنالیز قرار گرفت و جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای پنج درصد استفاده شد. مدل آماری طرح به‌صورت زیر می‌باشد.

رابطه (۸) $$Y_{ij}= \mu + T_i+ e_{ij}$$

که در آن، Y_{ij}: مربوط به تکرار (j) از تیمار (i)ام، μ: میانگین مشاهدات کل آزمایش T_i: اثر تیمار (i)ام و e_{ij}: خطای آزمایش مربوط به تکرار (i)ام از تیمار (j)ام است.

نتایج و بحث

تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر عملکرد تولیدی مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. مصرف خوراک، وزن تخم‌مرغ، در صد تولید، و ضریب تبدیل خوراک مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش، تحت تأثیر استفاده از سطوح مختلف مخمر اتولیز شده قرار نگرفت ($P>0/05$). در توافق با آزمایش حاضر، یالسین و همکاران (Yalçin *et al.*, 2008) با افزودن مخمر *ساکارومایسز سرویزیا* به جیره مرغان تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری در مصرف خوراک و درصد تولید پرندگان گزارش نکردند. همچنین نرسوی و همکاران (Nursoy *et al.*, 2004) گزارش کردند که افزودن مخمر به جیره مرغ تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری بر وزن تخم‌مرغ ندارد. کویاما و همکاران (Koiyama *et al.*, 2018) با استفاده از سطوح مختلف دیواره سلولی مخمر (۲۲۵، ۴۵۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در تغذیه مرغان تخم‌گذار گزارش نمودند که پرندگان مصرف‌کننده سطح ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مخمر مصرف خوراک، درصد تولید و توده تخم‌مرغ بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها نشان دادند. امّا تأثیر معنی‌داری در وزن تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک مشاهده نکردند. نتایج پژوهش حاضر در ارتباط با وزن تخم و ضریب تبدیل خوراک در توافق با یافته‌های کویاما و همکاران (Koiyama *et al.*, 2018) می‌باشد. در توافق با یافته‌های پژوهش حاضر، هاشیم و همکاران (Hashim *et al.*, 2013) نیز گزارش نمودند که مصرف خوراک، درصد تولید و نیز ضریب تبدیل خوراک مرغان تخم‌گذار تحت تأثیر استفاده از سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ دیواره سلولی مخمر قرار نگرفت. آهیوا و همکاران (Ahiwe *et al.*, 2019) با استفاده از مخمر اتولیز شده در تغذیه جوجه‌های گوشتی مواجه شده با *سالمونلا*، بیان نمودند که استفاده از مخمر در ۱۰ روزگی تأثیر معنی‌داری بر مصرف

خوراک نداشت، ولی در ۲۴ و ۳۵ روزگی، افزودن مخمر توانست مصرف خوراک پرندگان مواجه شده با *سالمونلا* را در مقایسه با پرندگانی که تنها با *سالمونلا* آلوده شده بودند افزایش دهد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج این محققین در تناقض است. شاید بتوان دلیل این تناقض را به تنش اعمال شده در پژوهش آهیوا و همکاران (Ahiwe *et al*., 2019) ربط داد. یک فرضیه در ارتباط با عدم تأثیر معنی‌دار افزودنی‌هایی مثل مخمر بر فراسنجه‌های عملکردی مرغان تخم‌گذار پرورش یافته در قفس این است که پرندگان مذکور در شرایط بهداشتی نگهداری می‌شوند. در یک مطالعه که توسط مارتینز و همکاران (Martínez *et al*., 2010) انجام شد، درصد تولید، مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک، واحد هاو، ضخامت پوسته و رنگ زرده تخم‌مرغ تحت تأثیر مکمل کردن جیره مرغان تخم‌گذار ۴۵ هفته سن با سطح ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از دیواره سلولی مخمر قرار نگرفت. با این وجود، در آزمایش دیگری که توسط همین محققین بر روی مرغان تخم‌گذار (۴۳ هفته) پرورش یافته در بستر انجام گرفت، مکمل نمودن دیواره سلولی مخمر باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک، درصد تولید و توده تخم‌مرغ شد. این یافته ممکن است به‌دلیل اثر مانان الیگوساکاریدها بر روی جمعیت میکروبی دستگاه گوارش پرندگان باشد. زیرا مشخص شده است که مانان الیگو ساکاریدها باعث بلوکه کردن مکان‌های اتصال باکتری‌های بیماری‌زا شده و از اتصال آن‌ها به دیواره روده جلوگیری می‌کنند. بنابراین، عملکرد بهتر پرندگان نگهداری شده در بستر در اثر استفاده از مخمر، ممکن است به‌دلیل دسترسی بیشتر و قابلیت هضم بالاتر مواد مغذی در نتیجه، تعادل میکروبی بهتر در دستگاه گوارش پرندگان باشد (Spring *et al*., 2000). اگرچه در پژوهش حاضر استفاده از مخمر اتولیز شده باعث بهبود جمعیت میکروبی سکوم مرغان تخم‌گذار شد (جدول ۴)، ولی این تغییر نتوانست فراسنجه‌های عملکردی را تحت تأثیر قرار دهد.

جدول ۲- اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر عملکرد تولیدی مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش

Table 2- Effect of different levels of autolyzed yeast on productive performance of laying hens during the experiment

مورد Item	مصرف خوراک (گرم) Feed intake (g)	تولید تخم‌مرغ (درصد) Egg production (%)	وزن تخم‌مرغ (گرم) Egg weight (g)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio
سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeast level (CC/1000L)				
0	109.96	79.70	63.7	2.13
250	112.97	80.60	64.3	2.18
500	114.15	81.43	64.2	2.17
750	112.02	76.08	64.1	2.29
SEM[1]	3.19	2.05	0.646	0.095
P- Value	0.819	0.290	0.899	0.681

[۱] خطای استاندارد از میانگین

[1] Standard error of the means

تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر خصوصیات کیفی تخم‌مرغ مرغان تخم‌گذار در وسط و انتهای آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. در هفته چهارم آزمایش، افزودن مخمر اتولیز شده به آب آشامیدنی تنها رنگ زرده تخم‌مرغ را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرارداد. رنگ زرده تخم‌مرغ در سطح ۲۵۰ سی سی مخمر اتولیز شده در مقایسه با سطح ۷۵۰ سی‌سی مخمر به‌طور معنی‌داری پررنگ‌تر بود (P <۰/۰۵). در هفته هشتم آزمایش نیز، تنها رنگ زرده تخم‌مرغ تحت تأثیر معنی‌دار افزودن مخمر قرار گرفت، به‌طوری‌که شاهد به‌طور معنی‌داری تخم‌مرغ‌هایی با زرده پررنگ‌تر در مقایسه با سطوح ۵۰۰ و ۷۵۰ سی سی مخمر داشتند (P <۰/۰۵). در توافق با آزمایش حاضر، یالسین و همکاران (Yalçin *et al*., 2008) گزارش نمودند که افزودن مخمر به جیره مرغ تخم‌گذار هیچ‌کدام از فراسنجه‌های کیفی تخم‌مرغ را تحت تأثیر قرار نداد. همچنین کویاما و همکاران (Koiyama *et al*., 2018) با استفاده از سطوح مختلف دیواره سلولی مخمر (۲۲۵، ۴۵۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در تغذیه مرغان تخم گذار گزارش نمودند که واحد هاو تخم‌مرغ در پرندگان تغذیه‌شده با سطح ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مخمر در مقایسه با شاهد افزایش یافت. نشان داده شده است که تخم‌مرغ‌های با واحد هاو بالاتر از ۷۲ دارای کیفیت عالی، در محدوده ۶۰ تا ۷۲ دارای کیفیت خوب و واحد هاو کمتر از ۶۰ دارای کیفیت پایینی هستند (USDA, 2000). بنابراین، در پژوهش حاضر تمام تخم‌مرغ‌های پرندگان تغذیه‌شده با مخمر اتولیز شده کیفیت عالی را نشان دادند اگرچه، به لحاظ آماری این شاخص معنی‌دار نشد. در توافق با نتایج پژوهش حاضر، کویاما و همکاران (Koiyama *et al*., 2018) با استفاده از سطوح مختلف دیواره سلولی مخمر (۲۲۵، ۴۵۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در تغذیه مرغان تخم گذار گزارش نمودند که مقاومت پوسته تخم‌مرغ تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. اگرچه ضخامت پوسته در تیمار ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مخمر افزایش نشان داد. در پژوهش حاضر، تیمار سطح ۲۵۰ سی‌سی مخمر اتولیز شده باعث افزایش رنگ زرده تخم‌مرغ شد و سطوح بالاتر چنین اثری را نشان ندادند. اگرچه دیواره سلولی مخمر

حاوی کاروتنوئید اسـت و اسـتفاده از آن‌ها می‌تواند پیگمان‌های رنگی زرده را تغییر بدهد، ولی چنین تأثیری تنها در سـطح ۲۵۰ مخمر دیده شد. این نتایج در توافق با یافته‌های کویاما و همکاران (Koiyama *et al*., 2018) که تأثیر معنی‌داری در اثر ا ستفاده از دیواره سلولی مخمر در رنگ زرده تخم‌مرغ در تغذیه مرغان تخم‌گذار مشـــاهده نکردند، می‌باشد.

جدول ۳- اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر صفات کیفی تخم‌مرغ مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش

Table 3- Effects of different levels of autolyzed yeast on the egg quality traits of laying hens during the experiment

صفت Traits	هفته Weeks	سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeas level (CC/1000L) 0	250	500	750	SEM[1]	P-Value
واحد هاو Haugh unit	هفته چهارم 4^{th} week	71.60	80.16	77.91	80.10	3.52	0.282
	هفته هشتم 8^{th} week	81.85	84.00	82.90	81.50	1.84	0.770
رنگ زرده Yolk color	هفته چهارم 4^{th} week	6.79^{ab}	7.25^{a}	6.54^{ab}	6.04^{b}	0.257	0.015
	هفته هشتم 8^{th} week	6.63^{a}	6.27^{ab}	5.91^{bc}	5.58^{c}	0.149	<0.0001
مقاومت پوسته (کیلوگرم/سانتی‌مترمربع) Eggshell strength (kg/cm^3)	هفته چهارم 4^{th} week	2.01	2.01	1.70	1.98	0.197	0.171
	هفته هشتم 8^{th} week	1.29	1.63	1.40	1.24	0.158	0.316
ضخامت پوسته (میلی‌متر) Eggshell thickness (mm)	هفته چهارم 4^{th} week	0.371	0.372	0.354	0.378	0.007	0.620
	هفته هشتم 8^{th} week		0.355	0.358	0.350	0.008	0.840

[۱] خطای استاندارد از میانگین

[a-c] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه به لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($P < ۰/۰۵$).

[1] Standard error of the means

[a-c] Means within same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر جمعیت میکروبی سکوم مرغان تخم‌گذار در جدول ۴ نشان داده‌شده است. افزودن مخمر اتولیز شـده در سـطوح ۵۰۰ و ۷۵۰ سـی‌سـی در ۱۰۰۰ لیتر آب به‌طور معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$)، جمعیت *لاکتوباسیل* را افزایش و جمعیت *کلی فرم‌های* سـکوم را کاهش داد. همچنین افزودن مخمر اتولیز شـده در سطح ۷۵۰ سی سی در ۱۰۰۰ لیتر آب به‌طور معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) جمعیت *اشرشیاکولی* *سکوم* را در مقایسه با سایر تیمارها کاهش داد. بورتولزی و همکاران (Bortoluzzi *et al*., 2018) با استفاده از سطوح ۰/۲ و ۰/۴ درصد مخمر اتولیز شده و نیز ۵۵ پی‌پی‌ام باسیتراسین روی در تغذیه جوجه‌های گوشتی گزارش نمودند که جمعیت *انتروکوکوس‌ها* در ایلئوم در ه شت روزگی در سطح ۰/۴ در صد مخمر اتولیز شده در مقایسه با سطح ۰/۲ درصد کاهش یافت، امّا هر دو گروه دریافت‌کننده مخمر جمعیت *لاکتوباسـیل* کمتری در مقایسـه با تیمار باسـیتراسـین روی نشان دادند. پرندگانی که سطح ۰/۲ در صد مخمر اتولیز شده را دریافت کرده بودند، جمعیت *اشرشیاکولی* کمتری در سکوم در مقایسه با تیمار با سیترا سین روی ن شان دادند که با نتایج پژوهش حا ضر در سـطح ۷۵۰ سـی‌سـی در ۱۰۰۰ لیتر آب هم‌خوانی دارد. به‌طور کلی، آن‌ها بیان کردند مخمر اتولیز شـده از طریق بهبود سـیسـتم ایمنی و جمعیت میکروبی روده، باعث بهبود عملکرد رشـد جوجه‌های گوشـتی می شود. شانگ و همکاران (Shang *et al*., 2018)، در آزمای شی به برر سی اثر مکمل سازی جیره با فروکتوالیگوساکارید به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک بر روی جمعیت میکروبی ایلئوم و ســکوم جو جه های گوشـتی پرداختند و به این نتیجه رسـیدند که تنوع جمعیت باکتریایی ایلئوم و ســکوم تحت تأثیر جیره مصـــرفی قرار دارد. همچنین اظهار داشـــتند مکمل ســـازی جیره با فروکتوالیگوســـاکارید باعث کاهش قابل‌توجه جمعیت باکتری‌های پاتوژن (*هلیکوباکترها*) مخاط ایلئوم و به‌طورکلی تعدیل جمعیت باکتری دســـتگاه گوارش در جهت بهبود عملکرد و سلامت جوجه‌های گو شتی می شود. پری بیوتیک‌ها تو سط د ستگاه گوارش ه ضم و جذب نمی شوند و به‌عنوان منبع غذایی برای باکتری‌های مفیدی مثل *لاکتوباسـیل‌ها* و *بیفیدوباکترها* در قســمت

پایینی روده استفاده می‌شوند (Adhikari and Kim, 2017). بنابراین، به نظر می‌رسد که جمعیت *لاکتوباسیل‌ها* با مکمل نمودن پری‌بیوتیک‌ها باید افزایش یابد که نتایج این پژوهش نیز در تأیید این مطلب می‌باشد. به لحاظ ساختار شیمیایی، پری‌بیوتیک‌هایی مثل فروکتوالیگوساکاریدها توسط باکتری‌های روده تخمیر می‌شوند درحالی‌که مانان الیگوساکاریدها با اتصال به باکتری‌های مضری مثل *اشرشیاکولی* و *سالمونلا* باعث کاهش کلنی شدن آن‌ها می‌شود (Ricke, 2018). این عمل باعث کاهش اتصال ریزجانداران مضر به سلول های اپیتلیوم روده و در نهایت، باعث دفع آن ها از طریق فضولات می‌شود (Adhikari *et al*., 2018). شاید دلیل کاهش جمعیت سکومی *اشرشیاکولی* و کلی فرم در سطح بالای مخمر اتولیز شده به همین علت با شد. ادهیکاری و همکاران (Adhikari *et al*., 2018) نشان دادند که مکمل نمودن فروکتوالیگوساکاریدها به جیره مرغان تخم‌گذار چالش داده‌شده با سالمونلا اینتریتیدیس باعث کاهش تکثیر *سالمونلا* و کاهش کلنی شدن باکتری‌ها در تخمدان می‌شود. ازآنجاکه فروکتوالیگوساکاریدها توسط باکتری‌های مفید روده تخمیر می‌شوند، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و اسیدلاکتیک افزایش می‌یابد (Ricke, 2018). مشخص‌شده است که باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک pH کمتر را می‌توانند تحمل کنند، ولی باکتری‌های مضری مثل *اشرشیاکولی* قابلیت تحمل pH پایین را ندارند (Russell, 1992).

جدول ٤– اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر جمعیت میکروبی روده کور مرغان تخم‌گذار در پایان آزمایش (log CFU/g)

Table 4- Effect of different levels of autolyzed yeast on cacal microbial population of laying hens at the end of the experiment (log CFU/g)

سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeas level (CC/1000L)	*کلی‌فرم* *Coliform*	*اشرشیاکولی* *Escherichia coli*	*لاکتوباسیل* *Lactobacilli*
0	5.09[ab]	5.09[a]	4.86[b]
250	5.34[a]	5.23[a]	4.89[b]
500	4.82[b]	5.13[a]	5.12[a]
750	4.77[b]	4.63[b]	5.26[a]
SEM	0.163	0.076	0.075
P-value	0.085	0.0002	0.004

[۱] خطای استاندارد از میانگین

[a-b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشابه به لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد (P < ۰/۰۵).

[1] Standard error of the means

[a-b] Means within column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر فراسنجه‌های لیپیدی خون مرغان تخم‌گذار در جدول ۵ نشان داده شده است. غلظت تری گلیسیرید، کلسترول و LDL خون مرغان تخم‌گذار تحت تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده قرار نگرفت (P>۰/۰۵). در توافق با نتایج پژوهش حاضر، یالسین و همکاران (Yalçin *et al*., 2008) با استفاده از سطوح صفر و ۰/۲ درصد مخمر تجاری در جیره‌های بر پایه کنجاله سویا یا کنجاله آفتابگردان به‌عنوان منبع پروتئینی در تغذیه مرغان تخم‌گذار تفاوت معنی‌داری در غلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم خون پرندگان مشاهده نکردند. موهان و همکاران (Mohan *et al*., 1995) کاهش غلظت کلسترول سرم خون در مرغان تخم گذار تغذیه‌شده با پروبیوتیک را گزارش نمودند.

جدول ۵– اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر برخی فرانسجه‌های خونی مرغان تخم‌گذار در پایان آزمایش (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

Table 5- Effect of different levels of autolyzed yeast on serum metabolites of laying hens at the end of the experiment (mg/dl)

سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeas level (CC/1000L)	تری‌گلسیرید Triglyceride	کلسترول Cholesterol	LDL
0	1083.67	91.66	41.66
250	1031.00	105.33	51.00
500	1064.33	109.33	47.00
750	907.67	94.66	51.00
SEM[1]	72.28	11.86	3.60
P-value	0.371	0.689	0.286

[۱] خطای استاندارد از میانگین

[1] Standard error of the means

نتایج تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر هیستومورفومتری روده مرغان تخم‌گذار در جدول ۶ نشان داده‌شده است. با افزایش سطح مخمر اتولیز شده ارتفاع پرز دوازدهه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که پرندگان مصرف‌کننده سطح ۷۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب ارتفاع پرز بالاتری در دوازدهه در مقایسه با شاهد و سطح ۲۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب داشتند. ضخامت پرز در دوازدهه تحت تأثیر معنی‌دار اعمال تیمارها قرار نگرفت (P>۰/۰۵). درحالی‌که عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در دوازدهه در پرندگان مصرف‌کننده سطح ۷۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد و سطح ۲۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب به‌ترتیب کاهش و افزایش نشان داد (P<۰/۰۵).

جدول ٦- اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر برخی فراسنجه‌های مورفولوژی روده مرغان تخم‌گذار در پایان آزمایش (میکرومتر)

Table 6- Effect of different levels of autolyzed yeast on some morphological parameters of intestine of laying hens at the end of the experiment (µm)

مورد Item	سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeas level (CC/1000L)				SEM[1]	P-Value
دئودنوم Duodenum	0	250	500	750		
ارتفاع پرز Villus height	1197.54[b]	1047.61[b]	1315.98[ab]	1516.65[a]	96.19	0.022
ضخامت پرز Villus thickness	114.04	133.31	130.69	130.70	10.58	0.566
عمق کریپت Crypt depth	150.33[a]	146.19[a]	134.56[ab]	117.06[b]	8.97	0.076
ارتفاع پرز به عمق کریپت Villus height/crypt depth	7.97[b]	7.16[b]	9.78[b]	12.95[a]	0.822	0.0006
ژژنوم Jejunum						
ارتفاع پرز Villus height	980.46	1010.32	862.53	774.67	87.62	0.241
ضخامت پرز Villus thickness	115.66	126.72	129.41	143.37	9.93	0.304
عمق کریپت Crypt depth	108.94[a]	98.55[a]	100.62[a]	77.40[b]	4.93	0.002
ارتفاع پرز به عمق کریپت Villus height/crypt depth	9.00	10.25	8.57	10.00	0.967	0.573
ایلئوم Ileum						
ارتفاع پرز Villus height	594.68	664.08	522.40	565.45	62.03	0.453
ضخامت پرز Villus thickness	107.52	109.77	106.78	114.24	13.27	0.978
عمق کریپت Crypt depth	87.56[ab]	88.41[ab]	108.11[a]	64.77[b]	9.35	0.037
ارتفاع پرز به عمق کریپت Villus height/crypt depth	6.79	7.51	4.83	8.73	1.06	0.118

[۱] خطای استاندارد از میانگین

[a-b] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه به لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد (P < ۰/۰۵).

[1] Standard error of the means

[a-b] Means within same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

در ناحیه ژژنوم، ارتفاع پرز، ضخامت پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت تحت تأثیر اعمال تیمارها قرار نگرفت (P>۰/۰۵). امّا عمق کریپت ژژنوم در پرندگان مصرف‌کننده بالاترین سطح مخمر اتولیز شده در مقایسه با سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). در ناحیه ایلئوم، عمق کریپت در بالاترین سطح مخمر اتولیز شده در مقایسه با سطح ۵۰۰ به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). امّا ارتفاع پرز، ضخامت پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ایلئوم معنی‌دار نشد (P>۰/۰۵). مورفولوژی لایه مخاطی روده کوچک پرندگان به سن، جیره مصرفی و فلور باکتریایی بستگی دارد (VanLeeuwen *et al*., 2004). وضعیت مخاط و ساختار میکروسکوپی آن شاخص خوبی از پاسخ روده به مواد فعال در خوراک و تغییرات مورفولوژی روده‌ای مانند پرزهای کوتاه‌تر و عمیق شدن کریپت در حضور مواد سمی می‌باشد (Viveros *et al*., 2011). همچنین وضعیت هیستولوژیکی مخاط روده نشانه خوبی از وضعیت سلامتی پرنده است. به‌طوری‌که پرز کوتاه‌تر و کریپت عمیق‌تر سبب جذب کمتر، افزایش ترشح موکوس به مجرای گوارشی، اسهال، کاهش مقاومت به بیماری و کاهش عملکرد می‌گردد (Masouri *et al*., 2017). سلول‌های پوششی پرز از کریپت منشأ گرفته و کریپت را می‌توان به‌عنوان کارخانه ساخت پرز در نظر گرفت. کریپت کم‌عمق‌تر نشانه ترن‌آور کندتر بافتی و نیاز کمتر به ساخت بافت جدید است. افزایش ترن‌آور سلولی نیاز به مواد مغذی را افزایش داده و سبب کاهش عملکرد در پرندگان می‌شود (Parsaie *et al*., 2007). ظرفیت جذب سلول‌های انترو سیت وابسته به ارتفاع پرز است. کاهش ارتفاع پرز سبب کاهش سطح برای جذب مواد مغذی می‌گردد. نسبت بیشتر ارتفاع پرز به عمق کریپت نشان‌دهنده بهبود وضعیت مخاط روده است (Xu *et al*., 2003). بنابراین، افزایش این شاخص در دوازدهه پرنده‌های تغذیه شده با سطح ۷۵۰ مخمر اتولیز شده در این آزمایش می‌تواند یکی از اثرات مفید استفاده از این مکمل در تغذیه طیور باشد. در پژوهش حاضر، در نتیجه استفاده از مخمر اتولیز شده، ارتفاع پرز دوازدهه افزایش و عمق کریپت کاهش یافت. در توافق با این یافته‌ها، سانتین و همکاران (Santin *et al*., 2001) گزارش نمودند که مکمل نمودن جیره‌ای دیواره سلولی مخمر *ساکارومایسز سرویسیا* باعث افزایش ارتفاع پرز و کاهش عمق کریپت می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از سطوح مختلف مخمر اتولیز شده در تغذیه مرغان تخم‌گذار اگرچه نتوانست فراسنجه‌های عملکردی و کیفی تخم‌مرغ را تحت تأثیر قرار دهد، امّا جمعیت *لاکتوباسیل* را افزایش و جمعیت *کلی فرم‌های* سکوم را کاهش و ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت دوازدهه را افزایش داد.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت فراهم نمودن زمینه جهت انجام کار تحقیقاتی تشکر و قدردانی می گردد.

References

1. Adhikari, P. A., & Kim, W. K. (2017). Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity–A review. *Animal Science*, 4, 949–966. https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0092.
2. Adhikari, P. A., Cosby, D. E., Cox, N. A., Franca, M. S. S., Williams, M., & Gogal Jr, R. M. (2018). Effect of dietary fructooligosaccharides supplementation on internal organs Salmonella colonization, immune response, ileal morphology, and ileal immunohistochemistry in aying hens challenged with *Salmonella enteritidis*. *Poultry Science, 97*, 2525–2533. https://doi: 10.3382/ps/pey101.
3. Ahiwe, E. U., Abdallh, M. E., Chang'a, E. P., Al-Qahtani, M., Omede, A. A., Graham, H., & Iji, P.A. (2019). Influence of autolyzed whole yeast and yeast components on broiler chickens challenged with *salmonella lipopolysaccharide*. *Poultry Science*, 98(12), pp.7129-7138. https://doi.org/10.3382/ps/pez452.
4. Bortoluzzi, C., Barbosa, J. G. M., Pereira, R, Fagundes, N. S., Rafael, J. M and Menten, J. F. M. (2018). Autolyzed yeast (Saccharomyces cerevisiae) supplementation improves performance while modulating the intestinal immune system and microbiology of broiler chickens. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 2:85. https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00085.
5. Botsoglu, N. A. & Fletouris, D. J. (2001). Drug resistant in foods. Pharmacology, Food Safety and Analysis. NewYork, Marcel Dekker, Inc. 541-548.
6. Çabuk, M., Alçiçek, A., Bozkurt, M. & İmre, N. (2003). Antimicrobial properties of the essential oils isolated from aromatic plants and using possibility as alternative feed additives. II. National Animal Nutrition Congress. 18-20 September, Konya, Turkey. pp. 184-187.
7. Davis, M. E., Maxwell, C. V., Erf, G. F., Brown, D. C., & Wistuba, T. J. (2004). Dietary supplementation with phosphorylated mannans improves growth response and modulates immune function of weanling pigs. *Animal*

Science. *82*, 1882–1891. https://doi: 10.2527/2004.8261882x.
8. Hashim, M., Fowler, J., Haq, A., & Bailey, C.A., (2013). Effects of yeast cell wall on early production laying hen performance. *Journal of Applied Poultry Research*, *22*(4), pp.792-797. https://doi.org/10.3382/japr.2012-00712.
9. Iji, PA., Saki, A., & Tivey, DR. (2001). Intestinal development and body growth of broiler chicks on diets supplemented with non-starch polysaccharides. *Animal Feed Science and Technology*, *89*, 175-188. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00223-6.
10. Jaehrig, S.C., Rohn, S., Kroh, L.W., Wildenauer, F.X., Lisdat, F., Fleischer, L.G. and Kurz, T. (2008). Antioxidative activity of (1→ 3), (1→ 6)-β-d-glucan from Saccharomyces cerevisiae grown on different media. *LWT-Food Science and Technology*, *41*(5), pp.868-877. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.06.004.
11. Koiyama, N. T. G., Utimi, N. B. P., Santos, B. R. L., Bonato, M. A., Barbalho, R., Gameiro, A. H., Araújo, C. S. S., & Araújo, L.F. (2018). Effect of yeast cell wall supplementation in laying hen feed on economic viability, egg production, and egg quality. *Journal of Applied Poultry Research*, *27*(1), 116-123. https:// http://10.3382/japr/pfx052.
12. Leeson, S., & Summers, J. D. (2008). Commercial Poultry Nutrition. 3rd Edition. Nottingham University Press, England.
13. Martínez, B. F., Contreras, A. A., & González, E. Á. (2010). Use of Saccharomyces cerevisiae cell walls in diets for two genetic strains of laying hens reared in floor and cages. *International Journal of Poultry Science*, 9, 105-108. https:// DOI: 10.3923/ijps.2010.105.108.
14. Masouri, L., Salari, S., Sari, M., Tabatabaei, S., & Masouri, B. (2017). Effect of feed supplementation with *Satureja khuzistanica* essential oil on performance and physiological parameters of broilers fed on wheat- or maize-based diets. *British Poultry Science*, 4, 425-434. https://DOI: 10.1080/00071668.2017.1327701 .
15. Mateo, E. D., Dave, R. I., & Stein, H. H. (2004). Effect of supplemental nucleosides for newly weaned pigs. *Animal Science*, *82*(Suppl. 2), 71.
16. Mohan, B., Kadirvel, M., Bhaskaran, M., & Natarajan, A. 1995. Effect of probiotic supplementation on serum/ yolk cholesterol and on egg shell thickness in layers. *British Poultry Science*, 36, 799–803. https://doi.org/10.1080/00071669508417824.
17. Nursoy, H., Kaplan, O., OGUZ, M., & Yilmaz, O. (2004). Effects of varying levels of live yeast culture on yield and some parameters in laying hen diets. *Indian Veterinary Journal*, *81*, 59-62.
18. Parks, C. W., Grimes, J. L., Ferket. P. R., & Fairchild, A. S. (2001). The effect of mannanoligosaccharides, bambermycins, and virginiamycin on performance of large white male market turkeys. *Poultry Science*, 80, 718–723.https:// DOI: 10.1093/ps/80.6.718 .
19. Parsaie, S. J., Shariatmadari, F., Zamiri, M. J., & Khajeh, K. (2007). Influence of wheat-based diets supplemented with xylanase, bile acid and antibiotics on performance, digestive tract measurements and gut morphology of broilers compared with a maizebased diet. *British Poultry Science*, 48, 594–600. https://doi: 10.1080/00071660701615788.
20. Rezaeipour, V., Fononi, H., & Irani, M. (2012). Effects of dietary L-threonine and *Saccharomyces cerevisiae* on performance intestinal morphology and immune response of broiler chickens. *Animal Sciences*, 42, 266-273. https://hdl.handle.net/10520/EJC127732.
21. Ricke, S.C. (2018). Focus: nutrition and food science: Impact of prebiotics on poultry production and food safety. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 91(2), 151.
22. Russell, J. B. (1992). Glucose toxicity and inability of *Bacteroides ruminicola* to regulate glucose transport and utilization. Applied and Environmental Microbiology, 58(6), 2040-2045. https://doi: 10.1128/aem.58.6.2040 2045.1992
23. Santin, E., Maiorka, A., Macari, M., Grecco, M., Sanchez, J. C., Okada, T. M., & Myasaka, A. M. (2001): Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisae* cell wall. *Journal of Applied Poultry Research*, 10, 236–244. https://doi.org/10.1093/japr/10.3.236.
24. SAS Institute Inc. (2003). SAS/STAT User's Guide Version 9. SAS Institute Inc., Cary, NC.
25. Shang, Y., Kumar, S., Thippareddi, H., & Kim W. K. (2018). Effect of dietary fructooligosaccharide (FOS) supplementation on ileal microbiota in broiler chickens. *Poultry Science*, 97, 3622–3634. https://doi: 10.3382/ps/pey131.
26. Shang, Y., Regassa, A., Kim, J. H., & Kim, W. K. (2015). The effect of dietary fructooligosaccharides supplementation on growth performance, intestinal morphology, and immune response in broiler chickens challenged with *Salmonella enteritidis* lipopolysaccharides. *Poultry Science*, 94, 2887–2897. https://doi: 10.3382/ps/pev275.
27. Shao, Y., Guo, Y., & Wang, Z. (2013). β-1,3/1,6-Glucan alleviated intestinal mucosal barrier impairment of broiler chickens challenged with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Poultry Science*, 92, 1764–1773. https://doi: 10.3382/ps.2013-03029.
28. Spring, P., Wenk, C., Dawson, K.A., & Newman, K.E. (2000). The effects of dietary mannaoligosaccharides on

cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Science*, 79(2), 205-211. https://doi: 10.1093/ps/79.2.205.

29. USDA Egg-Grading Manual. (2000). Agricultural Handbook Number 75. USDA Agricultural Marketing Service, Washington, DC. 56 p.
30. VanLeeuwen, P., Mouven, J. M. V. M., VanderKlis, J. D., & Verstegen, M. W. A. (2004). Morphology of the small intestinal mucosal surface of broiler in relation to age, diet formulation, small intestinal microflora and performance. *British Poultry Science*, 45, 41-48. https://doi: 10.1080/00071660410001668842.
31. Viveros, A., Chamorro, S., Pizarro, M., Arija, I., Centeno, C., & Brenes, A. (2011). Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. *Poultry Science*, 90, 566-578. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00889.
32. Xu, Z. R., Hu, C. H., Xia, M. S., Zhan, X. A., & Wang, M. Q. (2003). Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science*, *82*, 1030–1036. https://doi: 10.1093/ps/82.6.1030.
33. Yalçin, S., Özsoy, B., & Erol, H. (2008). Yeast culture supplementation to laying hen diets containing soybean meal or sunflower seed meal and its effect on performance, egg quality traits, and blood chemistry. *Journal of Applied Poultry Research*, 17(2), 229-236. https://doi.org/10.3382/japr.2007-00064.